



The effect of Fray-Farthing-Chen Cambridge process on osteogenesis of human bone marrow mesenchymal stem cells on ceria-stabilized zirconia/alumina nanocomposite surface in vitro

著者	呉 雨函
号	49
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	歯博第828号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00126832

氏 名（本籍）： 呉 雨 函（中国）

学 位 の 種 類： 博 士 （ 歯 学 ）

学 位 記 番 号： 歯 博 第 8 2 8 号

学位授与年月日： 2018 年 9 月 25 日

学位授与の要件： 学位規則第4条第1項該当

研究科・専攻： 東北大学大学院歯学研究科（博士課程）歯科学専攻

学位論文題目： The effect of Fray-Farthing-Chen Cambridge process on osteogenesis of human bone marrow mesenchymal stem cells on ceria-stabilized zirconia/alumina nanocomposite surface in vitro（セリア安定化ジルコニア／アルミナナノコンポジット表面上のヒト骨髄系幹細胞の骨形成における Fray-Farthing-Chen Cambridge プロセスの影響）

論文審査委員：（主査）教授 鈴木 治
教授 佐々木 啓一 准教授 高田 雄京

論文内容要旨

Purpose: Investigate the effects of Fray-Farthing-Chen (FFC) Cambridge process on the proliferation and osteogenesis of human bone marrow mesenchymal stem cells (hBM-MSCs) on ceria-stabilized zirconia/alumina nanocomposite (NANOZR; Panasonic Health Care, Japan) surface *in vitro*.

Materials and methods: NANOZR discs (diameter, 15 mm; thickness, 1.5 mm) exposed to three kinds of surface conditions i.e. machined (MA), sandblast and acid-etched (SLA), and the FFC Cambridge process were used in this study. SLA-CpTi (pure titanium; Nippon Steel Co, Japan) was used as a control. In the osteogenesis-related experiments, hBM-MSCs were cultured in osteogenic differentiation medium simulating an environment filled with various osteogenesis inducers. The proliferation and osteogenesis abilities of hBM-MSCs were investigated by 5-ethynyl-20-deoxyuridine (EdU) flow cytometry assay, alkaline phosphatase (ALP) activity assay, alizarin red S staining, and real-time quantitative polymerase chain reaction (qPCR) analysis.

Results: The proliferation of hBM-MSCs was significantly enhanced on FFC-NANOZR when compared to the controls. Similarly, FFC-NANOZR significantly enhanced the osteogenic differentiation of hBM-MSCs when compared with the machined NANOZR and SLA-NANOZR groups during the early stage of osteogenesis; the effect was equivalent to that of SLA-Ti. Relative levels of osteogenesis related mRNA including *Runx2*, *Sp7*, *Bmp-2*, *Col1a1*, *Ocn*, and *Opn* were examined by qPCR. The findings were consistent with those of the ALP activity and alizarin red

staining assays.

Conclusion: Within the limitation of this study, our results suggested that the FFC Cambridge process significantly enhanced the proliferation and osteogenesis abilities of hBM-MSCs on NANOZR surface in vitro indicating its potential as a promising surface modification method for the development of next-generation all-ceramic implant materials.

審査結果要旨

安定化ジルコニア (ZrO_2) は、強度および靱性などの機械的特性が優れており、工業的に広く用いられている。歯科領域においては既に、イットリアで安定化した Y-TZP 材料、セリアで安定化した Ce-TZP とアルミナ (Al_2O_3) との複合材 NANOZR が、歯冠補綴材料として応用されている。その中で NANOZR は、高い生体親和性を有すること、また高い靱性を発現し得る結晶構造上のメカニズムを有することから、これまで他のセラミックス材料では適用が制限されてきた生体内荷重下での使用、特に歯科用インプラント材料としての使用が期待されている。しかし生体への適用には、さらなる生体親和性向上が求められている。

本論文は、歯科用インプラント材料として注目される商用ジルコニアである NANOZR の骨形成能の改善を目的にした表面改質を調べたものである。対照群として 3Y-TZP と CpTi を用いて、ヒト骨髄由来間葉系幹細胞 (hBM-MSCs) の骨分化能について比較検討した。ジルコニア表面の初期段階における細胞の増殖、分化を促進するために表面マイクロポラス構造が有効であるとの仮説を持ち、金属材料での表面処理方法として既に確立されている熔融塩中における電気化学的脱酸素処理 (FFC Cambridge) がジルコニア材料の骨形成能向上に寄与し得るか、細胞親和性の観点から検討を行った。

FFC Cambridge によって処理した NANOZR 表面では、hBM-MSCs の増殖および分化ともに未処理群と比べて、有意に促進されることが示された。また、骨分化指標である *Runx2*, *Sp7*, *Bmp-2*, *Colla1*, *Ocn* および *Opn* の発現が共に FFC Cambridge によって処理した NANOZR 表面で他の材料と比べて高いレベルを示すことが分かった。さらに、石灰化指標である ALP 活性およびアリザリンレッド染色の結果も同様の傾向を示し、FFC Cambridge 処理は NANOZR 材料表面での細胞の増殖・分化を促すことが示唆された。

本研究では、*in vitro* の検討に基づき、NANOZR の FFC Cambridge 処理の有効性について対照材料との比較で明らかにしている。バイオセラミックスの生体親和性向上の加工法として FFC Cambridge をセラミックス材料に導入し、有効性を提示した。本研究は骨分化能向上のメカニズムの一端を解明し、FFC Cambridge 処理を用いる根拠を提示していること、また、歯科生体材料学の研究領域に学術的貢献をし得ることから 博士 (歯学) の学位論文として相応しいと判断する。